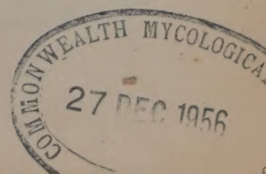
L'AGRONOMIE
TROPICALE

Extrait du n° 1
Janvier-Février 1954

UNE GRAVE MALADIE DU RIZ DUE A *OPHIOBOLUS ORYZINUS* Sacc.

par A. M. SACCAS et H. FERNIER



UNE GRAVE MALADIE DU RIZ DUE A *OPHIOBOLUS ORYZINUS* SACC.

par A. M. SACCAS et H. FERNIER

I. — CONSIDÉRATIONS GÉNÉRALES

En juin 1952, l'ingénieur d'Agriculture ARLOT, en service à la Station Centrale de Boukoko, était chargé de l'étude expérimentale de nombreuses variétés de riz introduites. Il signalait, dans la rizière irriguée, la présence d'un parasite qui causait le flétrissement et la mort de nombreux pieds, répartis irrégulièrement dans l'ensemble des vingt-sept variétés suivantes, occupant chacune 100 m² de superficie :

Origine	Madagascar	Congo belge	Angola	Arkansas	A. O. F.	Tchad	Guyane
Variétés	M 32 M 37 M 80 M 228 M 406 O 796 A O 764 A	Ca 446/b/2/1 Ca 902/b/2/1 Ca 212/b/5/1 Ca 902/b/3/3	Cristal Carolina Didia Azula Rosenta Chinchirica Tile Branco	Edith Lady Wright	Sornavari Dissi	Congo Laï I Laï II	Guyane I Guyane II

C'était un mois après le repiquage, le riz se trouvait au stade herbacé. Les dégâts ne dépassaient pas 3-4 %, mais la végétation était moins vigoureuse et le feuillage, vert pâle ou jaunissant, donnait à la culture une apparence souffreteuse. Le tallage des pieds-mères était réduit. Vingt jours plus tard, au commencement de l'épiaison, la maladie prenait une extension inquiétante et aboutissait à la mort de toutes les variétés. La gravité des dégâts nous poussa à entreprendre une étude complète du parasite qui fait l'objet de la présente Note.

II. — HISTORIQUE. RÉPARTITION GÉOGRAPHIQUE

Ophiobolus oryzinus a été décrit pour la première fois par SACCARDO (3), en 1916, sur chaumes pourrissants d'*Oryza sativa* provenant des Philippines et récoltés par BAKER (1) la même année. En Arkansas (U. S. A.), il a été trouvé par MELCHERS en 1925 (2). En 1932, TULLIS (5) montrait que ce champignon est un parasite du riz. En 1933 (6), il publiait un article détaillé sur ses observations. Des inoculations artificielles sur les variétés Fortuna et Blue rose montrèrent que le champignon peut provoquer la mort de certains pieds et sur d'autres des dommages sérieux. La couronne de nombreux pieds de riz rouges était également envahie par le même parasite.

Son aire de répartition paraît très limitée. Jusqu'à ces dernières années, il n'était signalé qu'aux Philippines et en Arkansas, où il semble très commun dans les rizières des environs de Stuttgart, causant la pourriture du pied (foot rot) ou la pourriture brune des gaines (brown sheath rot).

Depuis 1949, nous l'avons trouvé à plusieurs reprises en A. E. F., plus particulièrement dans les cultures de riz sèches et irriguées de la Station de Boukoko. Il ne sévissait qu'à l'état sporadique, et, par ses dégâts minimes, nous le considérions comme un parasite secondaire au même titre qu'*Ophiobolus oryzae* MIYAKE. Alors qu'en 1952, il s'est révélé particulièrement virulent.

III. — ASPECT MACROSCOPIQUE DES PLANTES ATTEINTES

Il est beaucoup plus facile de suivre les symptômes d'une maladie sur des plantes contaminées artificiellement que dans la nature. Notons cependant les observations suivantes faites dans la rizière :

La maladie a fait son apparition sur un nombre assez réduit de pieds répartis dans l'ensemble des vingt sept variétés. Les premières attaques se sont manifestées quinze à vingt jours après le repiquage, au moment où les pieds portaient quatre à cinq feuilles. La mortalité ne dépassait pas 3-4 %.

Dans l'ensemble, la végétation était peu vigoureuse et le feuillage d'une coloration jaunâtre ou vert pâle. De plus, les deux premières feuilles de la base, aux gaines décolorées, étaient desséchées et pendantes, flottant à la surface de l'eau.

Le tallage était nul, ou très réduit, chaque pied-mère ne portant qu'un à trois talles, au lieu de cinq à vingt, voire trente, dans le cas d'une culture saine irriguée et repiquée.

La mort de tous les pieds survint vingt jours après celle des premiers, au début de l'épiaison. L'examen macroscopique d'un grand nombre de pieds morts a permis de constater :



FIG. 1. — Taches nécrotiques caractéristiques sur la première gaine de pieds de riz attaqués par *Ophiobolus oryzinus*. Noircissement du chaume à cet endroit.

a) Sur les gaines du premier ou du second nœud de la base, présence de nombreux points noirs ou périthèces du champignon. Ces gaines sont décolorées ou bien présentent une tache nécrotique brun grisâtre, de 1-2 cm de diamètre, auréolée d'une zone de coloration plus foncée.

b) Sur la face interne des gaines, présence d'un abondant réseau mycélien brun olivacé rayonnant qui tend à couvrir toute la surface.

c) Sur les chaumes, au niveau du premier ou du second entre-nœud, on constate soit une tache nécrotique brun foncé, soit un brunissement total de toute la portion située entre ces deux nœuds.

SYMPTOMES DE LA MALADIE

L'étude expérimentale par inoculation artificielle de mille six cents pieds de riz des trois variétés M 37, M 80 et M 228, originaires de Madagascar, provenant de graines non contaminées, permet de décrire ainsi la maladie :

Les effets du parasite sont variables suivant le stade végétatif des pieds de riz.

D'après nos observations, trois cas peuvent se produire :

1° L'infection se produit au moment où les jeunes plantules ne portent que deux à trois feuilles :

La maladie se manifeste par le jaunissement, puis le desséchement de la première ou des deux premières feuilles de la base, conséquence du desséchement des gaines correspondantes, au bout de quinze à vingt jours. La mort des plantules survient, dans presque tous les cas, trente à quarante-cinq jours après l'inoculation. L'arrachage de

ces pieds permet de constater une tache nécrotique brun foncé, localisée dans la région comprise entre le premier et le second nœuds et intéressant la gaine et le chaume, avec présence de périthèces sur la gaine.

2° **Sur les pieds à végétation plus avancée** l'infection n'entraîne pas obligatoirement leur mort. Les premiers symptômes sont identiques à ceux qu'on observe sur les jeunes plantules. Au bout d'un certain temps, les gaines et les limbes de la base jaunissent à leur tour et restent à ce stade pendant longtemps ; les feuilles plus hautes également ; celles du sommet persistent mais sont d'une coloration vert pâle. La croissance s'arrête ou diminue et l'épiaison se produit assez tardivement ; les plantes atteintes donnent une panicule petite, peu ramifiée, vide ou à graines mal formées. Parfois l'épiaison ne se fait pas. Les entre-nœuds sont courts et les plantes ne dépassent pas 50-60 cm de hauteur, avec au maximum cinq feuilles. Parallèlement, le tallage est réduit ou nul. Parfois, en arrachant des pieds porteurs de ces symptômes, on observe la formation de jeunes talles, qui restent à un stade très jeune et durcissent sans se développer. Le jaunissement peut s'accentuer et la plante meurt.

Au niveau du collet, on constate la présence soit d'une tache nécrotique décolorée, auréolée d'une zone de coloration plus foncée sur la gaine (Fig. 1), soit d'un brunissement total de celle-ci. Un abondant mycélium brun olivacé, rayonnant et dense, tend à envahir toute la surface interne de la gaine. A ce niveau, la surface du chaume peut présenter une tache nécrotique brunâtre, ovale ou arrondie, de 0, 2 à 0, 5 cm de large ; le plus souvent, elle ne porte aucune altération apparente surtout sur les sujets encore vivants.

3° **L'infection se manifeste tardivement, après l'épiaison.**

La première et la deuxième feuilles de la base jaunissent et se dessèchent. Celles qui sont situées au-dessus jaunissent également, sauf celles du sommet qui paraissent normales. En déracinant ces pieds, on observe la présence de nombreux périthèces du champignon à la face externe des gaines de la base qui paraissent décolorées alors que la surface du chaume correspondante ne présente aucune altération apparente. Dans ce cas, la présence du parasite a pour effet le mauvais développement des panicules et surtout des graines dont la maturation subit un retard de quinze jours à un mois.

Les pieds-mères ne tallent pas, ou portent de jeunes talles non développés.

IV. ÉTUDE MICROSCOPIQUE DU CHAMPIGNON

Le champignon a été isolé par la méthode des dilutions successives et cultivé en boîtes de Pétri et tubes à essais dans les milieux nutritifs suivants : potato dextrose agar, prune agar, Sabouraud, extrait de riz dextrosé gélosé et corn meal agar. Les deux premiers ne conviennent pas au développement du champignon. Sur Sabouraud et extrait de riz et surtout sur corn meal agar, les ascospores germent facilement en formant des colonies très étendues et bien caractéristiques.

Il est à signaler que, dans tous ces milieux, nous n'avons observé aucune formation conidienne, ce qui nous permet de supposer que les ascospores sont les seuls organes de reproduction du champignon.

Caractères macroscopiques des cultures sur corn meal agar

Les ascospores ont été obtenues par écrasement des périthèces directement prélevés sur gaines de pieds de riz morts et ensemencées sur corn meal agar en boîtes de Pétri soumises à une température de 26° C. Au bout de trois jours, se montre à la surface du milieu une petite colonie incolore, de forme arrondie ne dépassant pas 0,5-1 mm de diamètre. Trois jours après, elle apparaît sphérique, rayonnante, fimbriée, atteint environ 1 cm de diamètre et prend une coloration brun olivacé à reflet verdâtre. Les filaments mycéliens, denses au centre, sont lâches vers la périphérie. Au bout de dix jours, la colonie devient bombée au centre, légèrement floconneuse en surface, à filaments lâches au pourtour et toujours rayonnants. Vingt jours après l'ensemencement, son diamètre varie entre 3,5 et 5 cm. Les hyphes très denses forment un plectenchyme plus ou moins épais et pénètrent dans le milieu. La surface formée par des hyphes aériennes est légèrement floconneuse. De nombreuses ébauches de périthèces apparaissent à la surface de la colonie. Ils se précisent au bout d'un mois, mais les jeunes asques ne contiennent pas d'ascospores, celles-ci ne se formant qu'au bout de quarante-cinq jours.

Les caractères culturaux sont les mêmes sur milieux de Sabouraud et extrait de riz dextrosé gélosé.

Caractères microscopiques

1° Mycélium (Fig. 2) :

Dans les tissus des racines, gaines et chaumes, le mycélium est incolore ou faiblement jaunâtre, cloisonné, cylindrique ou à contour irrégulier, prenant la forme des parties intercellulaires, très ramifié. Il mesure 2-3,5 μ de diamètre.

En milieux de cultures artificiels, le mycélium au début est incolore, cylindrique, cloisonné à des espaces plus ou moins réguliers et pluriguttulé. Sa membrane est mince et son diamètre ne dépasse pas 2,5-3 μ. Dans les cultures âgées de six à dix jours et au delà, le mycélium est brun olivacé, cloisonné, cylindrique ou à contour irrégulier, très ramifié, à membrane épaisse. Son cytoplasme porte de nombreuses gouttelettes lipidiques réfringentes. Plus âgé, il devient très articulé. De chaque article partent de nombreuses ramifications formant avec lui un angle de 60 à 70° assez caractéristique. Les anastomoses sont nombreuses.

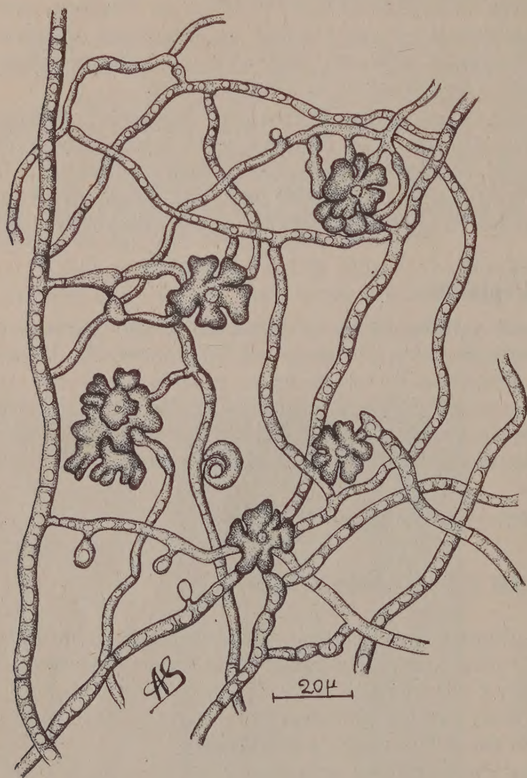


Fig. 2. — Mycélium d'*Oph. oryzinus*, observé en culture sur corn meal agar, dix jours après l'ensemencement.

Fréquemment, en cultures de six à dix jours sur corn meal agar, on observe des filaments courts naissant presqu'à angle droit sur les filaments-mères. Ils se dilatent à leur extrémité en une masse d'aspect amiboïde, de 18-25 μ de diamètre, à membrane épaisse de coloration plus foncée. Un autre filament court provenant d'un deuxième filament-mère vient s'accoler à la masse amiboïde qu'il entoure en partie. Nous pensons qu'il s'agit de la formation des ébauches des périthèces.

2° Forme parfaite :

a) Périthèces.

Ils se forment abondamment sur les pieds de riz atteints, morts et desséchés ou encore vivants, généralement dans les gaines foliaires, la première ou la seconde de la base, correspondant approximativement à la surface du niveau d'eau dans les rizières irriguées. Ils sont en nombre variable de cinq à deux cent cinquante, disposés isolément le long des parties internervaires des gaines, parfois même irrégulièrement, et visibles à l'œil nu sous forme de petites ponctuations noirâtres, à la face externe des gaines. Ces ponctuations représentent les cols des périthèces faisant saillie à la surface. Nous les avons trouvés rarement sur les chaumes au voisinage du collet. Ils apparaissent généralement un mois ou un mois et demi après l'inoculation des pieds avec des ascospores. En milieux de cultures artificiels, plus particulièrement sur maïs gélosé, ils se forment au bout du même temps après l'ensemencement, à la température ambiante (26° C.).

Des coupes transversales, pratiquées dans les gaines foliaires, permettent de voir que les périthèces sont logés dans les tissus parenchymateux des gaines, occupant presque toute leur épaisseur et dont le col émerge à la face externe.

Ils sont globuleux à subglobuleux, à parois submembraneuses composées de trois à quatre couches de cellules à membrane épaisse et de forme irrégulière, et de plusieurs couches de cellules internes, incolores et allongées, sur lesquelles prennent naissance les asques et les paraphyses qui les accompagnent. Leur coloration est brun ocracé à brun noir, celle du col est plus foncée.

Leur diamètre varie entre 155 et 415 μ, la moyenne sur vingt-cinq périthèces étant 325. Le col, de forme conoïde à subcylindrique, mesure 90-112 μ de haut et 90-100 de large.

b) Asques (Fig. 3).

Ils sont nombreux, cylindro-claviformes, légèrement courbes, rarement droits, à sommet arrondi et base courtement stipitée plus étroits que la partie médiane. Ils sont octosporés, rarement à six ascospores. Celles-ci sont disposées le long de la cavité ascale et s'échappent à maturité, par la partie apicale de l'asque, sous l'action alternante de l'humidité et de la sécheresse.

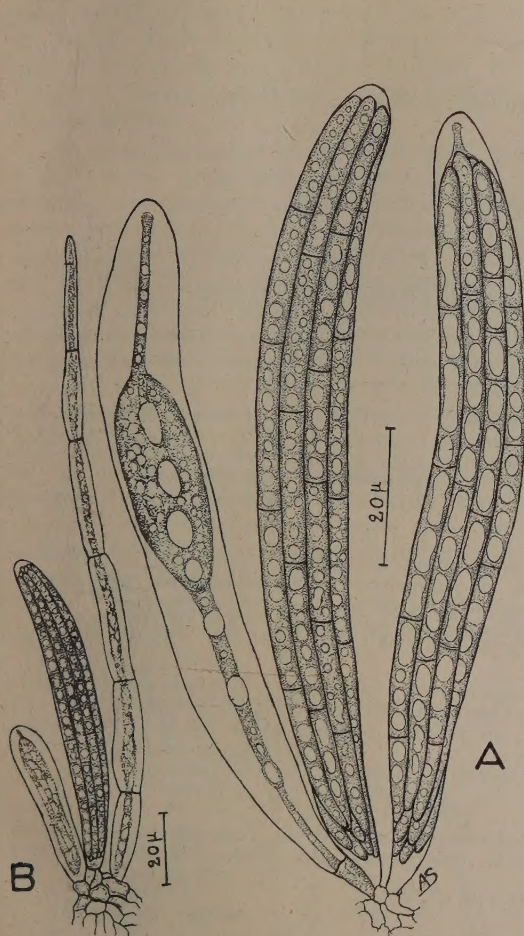


FIG. 3. — A : Asques d'*Ophiobolus oryzinus*.
B : Asques et paraphyse.

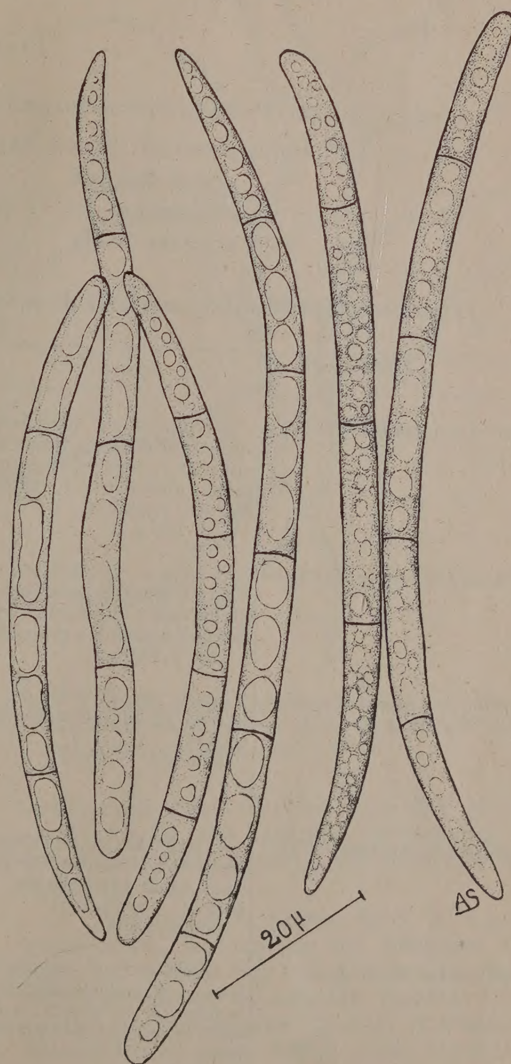


FIG. 4. — Ascospores d'*Ophiobolus oryzinus* fortement grossies.

La membrane des asques jeunes, dans lesquels les ascospores ne sont pas encore différenciées, est incolore et épaisse, et peut mesurer 2-3 µ d'épaisseur. Celle des asques mûrs au contraire est faiblement jaunâtre et mince sauf dans la partie apicale.

Les asques mesurent 72-123 × 10,5-14,5 µ (moyenne sur cinquante asques : 102,8 × 12,7 µ) et sont accompagnés de nombreuses paraphyses, effilées vers le sommet, larges à la base, portant cinq à sept cloisons transversales et deux fois plus longues que les asques, 150-220 × 5-7 µ (Fig. 3, B).

c) Ascospores (Fig. 4).

Jeunes, elles sont hyalines, subhyalines à faiblement jaunâtres à maturité, filiformes, subcy-

lindriques, à sommet obtus et partie basale généralement plus étroite et plus effilée. Dans l'ensemble, elles sont courbes, mais à courbure atténuée, rarement droites. Leur membrane est mince et leur cytoplasme granuleux contient de nombreuses gouttelettes réfringentes de forme variable. Elles portent trois à cinq cloisons transversales, le plus souvent trois ou quatre difficilement perceptibles chez les ascospores jeunes. Dimensions : 70-115 × 3,4-4,6 µ (Moy. : 86,4 × 4,2 µ).

Taxonomie

Jusqu'ici quatre espèces d'*Ophiobolus* ont été signalées et décrites sur *Oryza sativa* :

Ophiobolus graminis (Sacc.) Sacc.
— *oryzae* Miyake
— *miyabeanus* Ito et Kuribayashi
— *oryzinus* Sacc.

Tableau comparatif des caractères de ces derniers et de l'*Ophiobolus* à l'étude :

Espèce	Périthèces	Asques	Ascospores
Ophiobolus graminis (Sacc.) Sacc.	Grégaires ou dispersés, immergés dans les tissus du support ; noir carbonacé, lisses, globuleux, à ostiole rétréci, conique. 500-750 µ θ.	Allongés, claviformes, arrondis au sommet, subsessiles, paraphyses non observées, octosporés. 80-90 × 12-13 µ.	Fasciculées, droites, parfois courbes, légèrement effilées et obtuses aux deux extrémités, hyalines, triseptées, pluriguttulées. 70-75 × 3 µ.
Ophiobolus oryzae Miyake.	Noirs, grossièrement pseudo-parenchymateux, globuleux à ellipsoïdes, immergés, à ostiole érumpent. 250 × 300 µ.	Cylindriques, accompagnés de paraphyses filiformes, égales ou un peu plus longues que les asques. 125-150 × 8-10 µ.	Filiformes, courbes et contournées, 5-7 septées, jaune foncé. 100-130 × 2-3 µ.
Ophiobolus miyabeanus Ito et Kuribayashi.	Brun jaunâtre foncé, à parois pseudoparenchymateuses. 560-950 × 368-777 µ.	Cylindriques, longuement fusiformes, contenant 1-8, en général 4-6 ascospores. 142-235 × 21-36 µ.	Hyalines à vert olivâtre, multicloisonnées ; 6-15, le plus souvent 9-12 septations ; enroulées en spirale, filamenteuses. 250-468 × 6-9 µ.
Ophiobolus oryzinus Sacc.	Globuleux, lâchement grégaires, sous-épidermiques, puis érumpents, à ostiole ± érumpent. 300-350 µ θ.	Cylindriques, arrondis à l'apex, courtement stipités. 95-110 × 7-11 µ.	3-5 septées, pluriguttulées, faiblement colorées en vert jaune. 86-100 × 3-4 µ.
Ophiobolus A. E. F.	Globuleux à subglobuleux, à parois submembraneuses, brun ocracé, à ostiole érumpent, de 90-110 µ haut. 155-415 µ θ.	Cylindro-claviformes, à apex arrondi, courtement stipités ; avec paraphyses très longues, cloisonnées. 72-123 × 10,5-14,5 µ.	Hyalines à faiblement jaunâtres, 3-5 septées, aux extrémités obtuses, et base faiblement effilée ; pluriguttulées. 70-115 × 3,4-4,6 µ.

Cette comparaison permet de penser que le champignon qui fait l'objet de la présente étude n'est autre qu'*Ophiobolus oryzinus* décrit par Saccardo.

V. — **ÉTUDE BIOLOGIQUE**

La biologie du champignon et plus particulièrement ses exigences thermiques et hygrométriques ont été étudiées *in vitro* au laboratoire.

Germination des ascospores

En goutte pendante dans l'eau glucosée à 2 %, dans les cellules de Van Tieghem.

A 26° C, la germination commence au bout de quatre à cinq heures sur un nombre assez réduit d'ascospores (10-15 %). Au bout de dix à douze heures, la presque totalité germe. Les conditions d'humidité étant identiques, la vitesse de germination est fonction de la température.

La germination se manifeste par l'apparition à l'une, ou le plus souvent aux deux extrémités des ascospores, d'une petite protubérance cylindrique, incolore. Les ascospores conservent leurs dimensions naturelles, mais les deux extrémités par lesquelles les filaments germinatifs prennent naissance deviennent plus effilées. Les nombreuses petites vacuoles disparaissent ; il s'en forme de grosses qui tendent à occuper toute la cavité de la spore comprise entre deux cloisons, le cytoplasme se déplaçant vers les parois.

Chaque ascospore donne donc généralement un, le plus souvent deux tubes germinatifs. Nous avons également remarqué que chaque cellule de l'ascospore peut donner naissance à un ou plusieurs filaments (Fig. 5).

Au bout de dix à douze heures, la germination étant terminée, les filaments germinatifs s'allongent, pouvant atteindre 50-120 µ × 2,5-3 µ. Ils sont incolores, cylindriques, cloisonnés transversalement à des espaces plus ou moins réguliers.

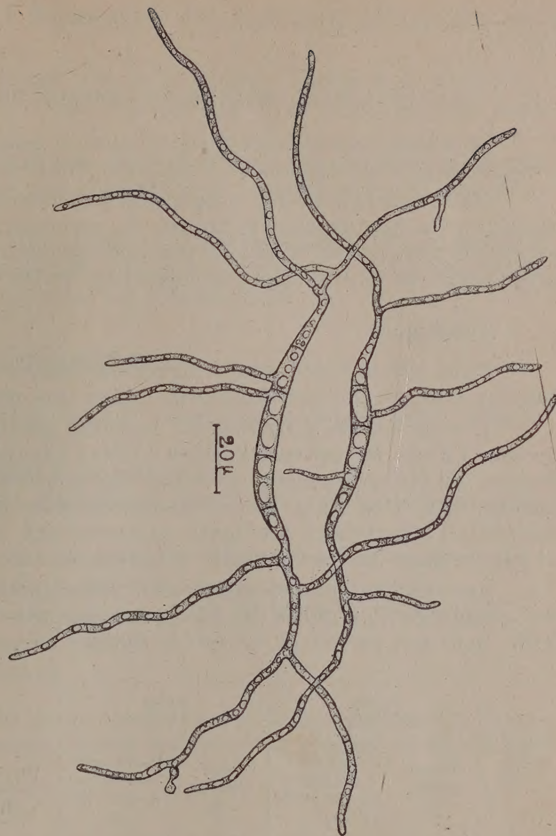


Fig. 5. — Aspect de la germination des ascospores observées vingt heures après l'ensemencement sur milieu corn meal agar, à 28° C.

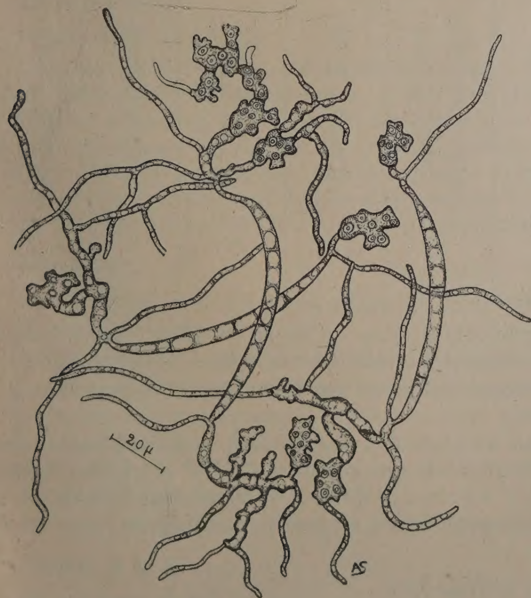


Fig. 6. — Aspect de la germination des ascospores observées vingt-quatre heures après l'ensemencement sur corn meal agar, à 26° C.

Vingt-quatre heures après la mise en germination, la longueur des filaments varie entre 150 et 250 µ. Sur leur parcours, on observe des ramifications secondaires, naissant sur les parties intercloisonnaires de part et d'autre du filament-mère avec lequel elles forment un angle presque droit, et donnant à leur tour d'autres ramifications. Au bout de ce temps, on peut considérer que la germination est terminée. Elle n'est jamais totale.

Dès le début de la germination, certains filaments se dilatent et prennent un aspect amiboïde à contour irrégulier ; leur membrane s'épaissit, devient brunâtre, donnant l'aspect d'un appressorium. De ces renflements très caractéristiques, qui ont été observés également en boîtes de Pétri, peuvent naître d'autres fila-

ments qui peuvent avoir la même forme que le filament-mère, ou s'allonger en un filament régulier (Fig. 6).

Températures optimum et maximum de germination. Température léthale.

Leur détermination a été faite d'après le pourcentage de germinations en des temps donnés et la longueur des tubes germinatifs dans les conditions d'humidité saturée.

Nous avons choisi des températures variant de 23 à 45° C. N'ayant pu opérer à des températures inférieures, la température minimum de germination reste indéterminée. Notons seulement que des ascospores maintenues en goutte pendante pendant quatre jours à 0° dans un frigidaire ne sont pas tuées. Soumises ensuite à une température de 26° C, elles germent au bout de cinq à six heures.

Technique.

Pour chacune des températures choisies, nous avons préparé aseptiquement cinq cellules de Ranvier, à partie concave remplie de milieu corn meal agar à pH = 6.

Des périthèces d'*Ophiobolus oryzinus*, prélevés sur gaines de riz désinfectées au bichlorure de mercure à 2 ‰, ont été écrasés dans de l'eau glucosée à 2 % pour libérer les ascospores. Les cellules de Ranvier ont été ensemencées avec une fine gouttelette de cette dilution de spores à l'aide de pipettes Pasteur, couvertes d'une lamelle et placées dans des chambres humides de Malassez permettant de maintenir l'atmosphère ambiante constamment saturée d'humidité. Chaque série de cinq cellules fut placée dans une étuve réglée à la température choisie.

Les examens microscopiques effectués après trois, six, douze, dix-huit et vingt-quatre heures, avec comptage du nombre des ascospores germées et mesure de la longueur de leurs filaments germinatifs, nous ont permis de dresser le tableau suivant :

Température en °C	Après trois heures		Après six heures		Après douze heures		Après dix-huit heures		Après vingt-quatre heures	
	Germinations %	Longueur des tubes germinatifs µ	Germinations %	Longueur des tubes germinatifs µ	Germinations %	Longueur des tubes germinatifs µ	Germinations %	Longueur des tubes germinatifs µ	Germinations %	Longueur des tubes germinatifs µ
23	0	—	10	8-15	47	25-30	87	40-60	89	50-120
24	0	—	15	20-27	58	32-40	76	54-85	92	90-150
25	0	—	25	25-30	80	40-57	89	60-98	89	100-180
26	25	15-20	70	45-80	94	89-150	94	100-180	94	130-250
27	28	12-20	85	50-70	90	72-140	90	110-175	90	120-185
28	32	5-10	74	30-55	85	50-80	85	70-110	85	90-130
30	35	5-10	58	25-40	87	35-65	87	45-80	87	50-100
32	40	5-8	50	15-25	50	25-40	50	35-70	50	40-50
35	0	—	—	—	—	—	—	—	—	—
40	0	—	—	—	—	—	—	—	—	—
45	0	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Ces résultats montrent que la température optimum se situe entre 26 et 27° C. dans les conditions de l'expérience. 32° est la température limite de germination des ascospores, puisque son action prolongée n'est pas favorable à l'élongation des tubes germinatifs et que le pourcentage de germination ne croît plus après six heures.

A 35°, nous n'avons observé aucune germination au cours des vingt-quatre heures de l'expérience. Les spores placées ensuite à 26° germent normalement, alors que séjournant à 40° en milieu humide, elles sont tuées au bout de quarante-huit heures, 40° représente donc la température léthale. A 45° et à 50°, dans les mêmes conditions d'humidité, elles sont tuées respectivement après vingt-quatre et huit à dix heures.

Influence de l'humidité

Des expériences *in vitro* au laboratoire ont montré que les ascospores d'*Ophiobolus oryzinus* germent plus facilement à la température optimum si elles sont au contact d'une gouttelette d'eau. Au

contraire, l'humidité saturée sous forme de vapeurs ne déclenche la germination qu'au bout de vingt-quatre à trente-six heures à la température optimum.

Les essais de germination dans une atmosphère non saturée de vapeur, réalisée dans un dessiccateur à l'aide de silicagel, n'ont donné que des résultats négatifs, même après un séjour prolongé dans les conditions de température optimum.

Nous pouvons donc conclure que l'infection des rizières se produit d'autant plus facilement que les ascospores y trouvent pour germer des conditions plus favorables de température et d'humidité. C'est le cas pour les rizières irriguées.

Pour les rizières en culture sèche, les rosées matinales et les pluies fréquentes, l'état hygrométrique élevé, en particulier dans les zones forestières tropicales, offrent aux ascospores de bonnes conditions pour germer à la surface des gaines et pour contaminer les plantes-hôtes.

VI. ÉTUDE EXPÉRIMENTALE

Tout en permettant de compléter nos observations dans la nature, elle a eu pour buts, outre la vérification de l'action du parasite sur la plante :

de préciser le stade végétatif le plus sensible à ses attaques ;

d'étudier la voie de pénétration et la durée d'incubation jusqu'à la manifestation des premiers symptômes ;

de découvrir les sources de contamination et la durée de conservation du pouvoir germinatif des ascospores, seuls organes de propagation de la maladie.

Nous avons choisi trois variétés originaires de Madagascar : M 32, M 80 et M 228, cultivées à Boukoko depuis 1948.

Expérience I

Six casiers de 1 m² de superficie chacun et 0,40 m de profondeur ont été remplis de terre n'ayant jamais reçu de culture de riz et à pH = 7,1. Pour chaque variété, quatre cents graines ont été semées le 12 juin dans deux casiers (deux cents par casier).

La levée a eu lieu le 18 juin dans les six casiers.

Casiers 1 et 2.

Semés avec M 32.

Le casier 1 a été contaminé artificiellement le 9 juillet. Les jeunes plantules portaient alors trois feuilles et avaient 15-20 cm de hauteur. A l'aide d'un micropulvérisateur on a réalisé un brouillard d'une dilution d'ascospores d'*Oph. oryzinus* que l'on a dirigé vers la base des tigelles. Les ascospores ont été obtenues par écrasement dans l'eau stérile de périthèces prélevés directement sur gaines de pieds de riz tués par le parasite. Les deux cents pieds de riz ainsi contaminés ont été couverts d'une grande cloche qui, au moment de la pulvérisation, les isolait du casier 2 servant de témoin. La veille de la contamination, les casiers avaient été abondamment arrosés.

Résultats.

Le 19 juillet, soit dix jours après l'inoculation, apparition des premiers symptômes (jaunissement des deux premières feuilles).

Le 24, jaunissement de l'ensemble des feuilles et desséchement des deux feuilles de la base.

Le 31, desséchement total de l'ensemble des plantules qui portaient trois à quatre feuilles. On y remarquait une tache nécrotique sur la première gaine et un brunissement du premier entre-nœud traduisant une profonde altération des tissus. Dès leur mort, de nombreux périthèces ont été observés dans les gaines de la base. L'examen microscopique de coupes anatomiques a révélé la présence de mycélium dans les tissus et les vaisseaux.

La végétation des plantules du casier 2 était normale.

Casiers 3 et 4.

Semés avec M 80.

Le 29 juillet, soit vingt jours après la contamination de la variété M 32 et dans les mêmes conditions, les pieds du casier 4, porteurs de quatre-cinq feuilles, ont subi une inoculation artificielle. Le casier 3 servait de témoin. L'épiaison n'était pas commencée.

Résultats.

Apparition des premiers symptômes par jaunissement des feuilles de la base douze jours après la contamination. Quinze jours plus tard, au début de l'épiaison, mort de cinquante-cinq pieds sur deux cents. La croissance des pieds restants est arrêtée et vingt jours après, le jaunissement est presque généralisé. Le tallage est nul.

Le 24 septembre, l'épiaison se manifeste sur soixante-douze pieds, les panicules sont très réduites et peu ramifiées. Jusqu'au 12 octobre, aucune graine n'est formée.

Les autres pieds présentent une végétation défectueuse. Aucune épiaison ne se produit. Leur feuillage est aux trois quarts desséché. Seules les deux feuilles du sommet, jaunes, subsistent. Leur mort survient le 28 octobre.

Les gaines de la base de tous les pieds portent de nombreux périthèces.

Casiers 5 et 6.

Semés avec M 228.

Le 13 août, alors que chaque pied-mère portait de six à douze talles au stade végétatif de deux à quatre feuilles, nous avons fait la même contamination que précédemment après avoir supprimé tous les talles des pieds du casier 5. Le casier 6 servait de témoin.

Résultats.

La croissance est normale jusqu'au 29 août et les panicules sont bien formées. Le 2 septembre, les deux premières feuilles de la base de l'ensemble des deux cents pieds sont desséchées. Puis, une ou deux feuilles situées au-dessus jaunissent, mais les feuilles du sommet restent bien vertes. Aucune autre altération apparente n'a été observée jusqu'au 15 octobre. Cependant les graines des panicules étaient mal formées, surtout celles du sommet, dans une proportion de 10 à 20 %.

Nous avons noté également un retard de quinze à vingt jours dans la maturation des graines par rapport à celles du casier-témoin.

Conclusions

Cette expérience nous a montré que :

1° *Ophiobolus oryzinus* attaque le riz à tous les stades de sa croissance.

2° La sensibilité de la plante vis-à-vis du parasite et les effets néfastes de ce dernier sont d'autant plus grands que les plantes sont plus jeunes.

3° Si la contamination des pieds de riz a lieu avant l'épiaison, les pieds qui échappent à la mort ont une végétation défectueuse et une production nulle.

4° Si les attaques sont tardives, après la floraison, elle ne tuent pas les plantes, mais le dessèchement d'une partie des feuilles peut entraîner une diminution des rendements atteignant 10-20 %.

5° En cas de fortes attaques, le tallage des pieds-mères est réduit ou nul.

Expérience II

Dans la nature ainsi que sur les pieds contaminés artificiellement à tous les stades, morts ou encore vivants, le champignon forme sur les gaines des feuilles de la base de nombreux périthèces. Nous avons voulu montrer par cette expérience que les ascospores contenues dans les asques sont les seuls organes de propagation et de reproduction du champignon, puisque la forme conidienne qui n'a été ni observée dans la nature, ni obtenue en culture n'existe probablement pas.

Deux casiers, de même superficie que les précédents ont été préparés de la même façon. Dans chacun sont plantés cent pieds morts prélevés dans la rizière et portant de nombreux périthèces d'*Ophiobolus oryzinus* sur les gaines foliaires. Puis à proximité de chaque pied deux graines sont semées de la variété M 37 dans le casier 1 et M 32 dans le casier 2. Après le semis elles sont arrosées abondamment. La levée a eu lieu six jours après et était totale.

Résultats

Un mois après le semis, les jeunes plantules portant alors trois feuilles bien étalées, la maladie faisait son apparition dans les deux casiers. Quinze jours plus tard, nous relevions la mort de cent vingt-deux pieds dans le casier 1 et quatre-vingt-sept dans le casier 2.

La végétation des autres pieds était peu vigoureuse et le feuillage jaunissant. Vingt-cinq pieds de M37 et 48 de M32 mouraient vingt jours après les premiers. Le tallage fut nul, les chaumes grêles et les entre-nœuds courts.

Tableau résumant nos observations :

Date de semis	Variétés	Pourcentage de pieds morts		Pieds à panicules %	Pieds vivants sans panicules %	Production
		le 15-7	le 4-8			
15 juin	M 37	61	12,5	16,5	10	0
	M 32	43,5	24	8,5	24	0

L'examen des pieds morts arrachés a permis de constater la présence de nombreux périthèces sur chacun. De même sur les pieds encore vivants.

Conclusion

Il résulte de cette expérience que les pieds, morts ou vivants, attaqués par le champignon dont ils portent les périthèces, et demeurant dans les rizières, constituent des foyers de contamination pour les cultures de riz suivantes. Le mycélium qui se trouve abondamment dans les tissus des gaines et sur leur face interne, ainsi que dans ceux des tiges et racines, peut résister longtemps en s'adaptant à la vie saprophytique et participer ainsi à la contamination des nouvelles cultures.

Durée du pouvoir germinatif des ascospores

Les essais suivants ont été faits en vue de sa détermination :

1° Des gaines portant des périthèces et humectées d'eau sont placées en chambre humide. Pendant trois mois, des prélèvements périodiques permirent de contrôler que le mycélium abondant formé à la surface des gaines correspondait à celui de l'*Ophiobolus* au point de vue forme, dimensions et coloration. Les asques de nombreux périthèces étaient vides, mais d'autres contenaient encore des ascospores mûres qui étaient en voie de germination.

2° Des gaines portant des périthèces ont été maintenues pendant quatre mois dans un dessiccateur ; au bout de ce temps, elles germaient dans la proportion de 80-90 %.

3° Des ascospores prélevées sur échantillons secs conservés pendant six mois dans l'atmosphère ambiante ont germé dans la proportion de 40-60 %.

De ces observations, nous pouvons penser que les périthèces logés dans les tissus des gaines et tiges de riz subissent dans le sol les actions alternantes de l'humidité et de la sécheresse qui facilitent l'échappement des ascospores mûres. Celles-ci germent, donnant du mycélium qui se développe sur les débris de riz comme saprophyte et capable, sans doute, de contaminer les nouvelles cultures.

Si les périthèces contiennent des ascospores jeunes, il s'écoule un certain temps avant qu'elles puissent en sortir. Mais comme il existe souvent dans la rizière des rejets par suite des graines tombées à terre lors de la récolte, l'*Ophiobolus* trouve constamment son support naturel pour se développer et contaminer les semis suivants.

Mode de pénétration du parasite

Les recherches effectuées sur les jeunes plants de riz contaminés artificiellement ont montré que la contamination se fait presque toujours par les gaines foliaires de la base au voisinage du sol. Les ascospores en contact avec la cuticule de la gaine et en présence de l'humidité saturée, et surtout des fines gouttelettes d'eau, germent au bout de quelques heures, suivant la température, par un court filament apical. Celui-ci au contact des tissus se dilate en s'appliquant étroitement sur la cuticule et

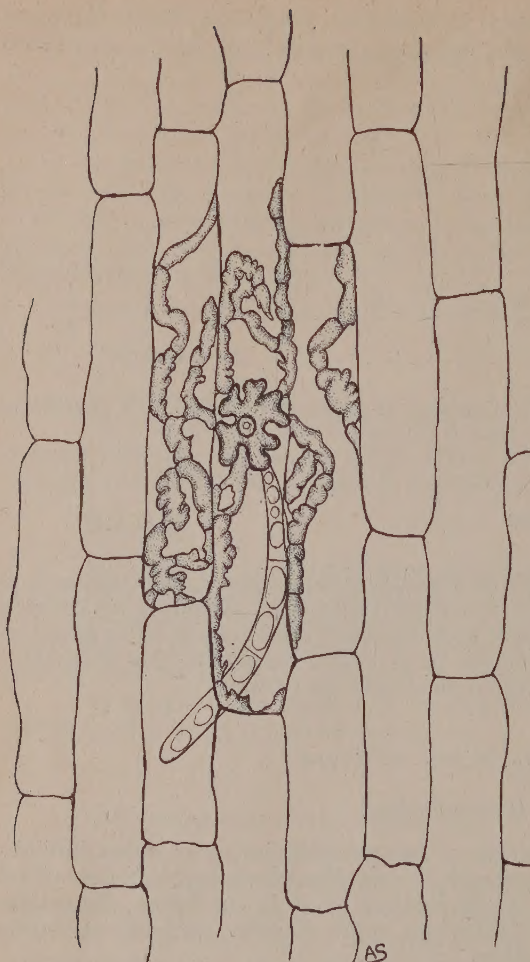


Fig. 7. — Coupe longitudinale sur gaine montrant la pénétration de l'hyphe.

il émet un appressorium qui traverse la cuticule et gagne les cellules épidermiques. La figure 7 montre une coupe longitudinale faite dans une gaine de pied contaminé depuis trois jours, sur laquelle on observe l'ascospore dont l'hyphe de pénétration a traversé la cuticule. Au contact des parois des cellules épidermiques, elle se dilate, prenant un aspect amiboïde à contour découpé, où naissent de nombreux filaments qui circulent dans les parties intercellulaires, ou bien pénètrent les cellules et causent leur mort.

Au bout de dix à quinze jours, les gaines sont entièrement envahies et le mycélium traverse l'épiderme de la face qui s'applique sur le chaume ou s'étale en éventail ; puis, au contact de la tige non encore sclérifiée, il peut pénétrer la cuticule et gagner les tissus internes qu'il envahit.

Les expériences ont montré que les hyphes du champignon ne peuvent pas pénétrer les tissus protégés par une zone de cellules sclérenchymateuses. Celle-ci est présente dans les pieds de riz à stade végétatif avancé. Dans ce cas, le parasite se localise uniquement dans les gaines foliaires dont il provoque le dessèchement.

VII. — ACTION DU PARASITE SUR LA PLANTE-HOTE

Recherches anatomiques

Des coupes anatomiques pratiquées dans les racines, gaines et chaumes, au voisinage du collet, de pieds morts ou mourants, ou d'apparence saine mais contaminés, permettent d'expliquer l'action du parasite.

Coupes transversales

Sur racines.

De nombreux filaments mycéliens incolores parcourent les tissus parenchymateux des racines des pieds morts et, moins fréquemment, les vaisseaux libéro-ligneux dont ils peuvent provoquer l'obstruction ; ils sont le plus souvent intracellulaires.

Les mêmes observations ont été faites sur les racines des pieds à feuillage jaunissant. Par contre, le mycélium est rarement présent dans les tissus des racines des pieds atteints mais à végétation normale.

Sur gaines.

Les coupes faites dans les parties comprises entre le collet et le deuxième nœud montrent la présence constante, aux trois stades de l'attaque, d'un abondant mycélium qui a envahi toute l'épaisseur de la gaine et est logé dans les cellules, les parties intercellulaires et les méats. Généralement, les vaisseaux libéro-ligneux sont totalement obstrués et il s'y forme des thylles, ce qui explique le jaunissement et la mort des gaines et des feuilles.

La pénétration des hyphes dans le tissu des gaines foliaires est facilitée par l'absence de tissus sclérenchymateux.

Sur chaumes.

Les coupes sur les chaumes de jeunes pieds morts permettent de déceler la présence du mycélium du champignon toujours inter et intracellulaire dans toute l'épaisseur du parenchyme ainsi qu'un brunissement des tissus dû à la mort des cellules. Le mycélium envahit les vaisseaux libéro-ligneux dont certains sont obstrués par les thylles. Dans ces jeunes pieds ne portant que trois-quatre feuilles, la pénétration du parasite est facilitée par l'absence de tissus sclérifiés dans les tigelles. Le champignon ayant envahi la gaine basale traverse l'épiderme de la face interne, puis s'étale en éventail sur la surface. En contact direct avec la cuticule de la tigelle, les hyphes la pénètrent et gagnent les tissus tendres et turgescents du parenchyme qu'elles envahissent ainsi que les vaisseaux conducteurs de la sève.

Les coupes transversales faites dans les chaumes de pieds à feuillage jaunissant mettent en évidence la présence de mycélium dans le parenchyme et les vaisseaux libéro-ligneux mais pas de tous les pieds. La présence de plusieurs couches de cellules sclérenchymateuses sous la cuticule constitue certainement une barrière infranchissable à la pénétration directe du parasite, par la surface de la tige surtout, quand l'attaque se fait à un stade avancé de la végétation de la plante. La contamination des racines permet alors d'expliquer la présence du mycélium dans les tissus de la tige malgré la présence de couches sclérenchymateuses, les hyphes pouvant remonter la tige par les vaisseaux ou à travers les tissus.

Les coupes pratiquées à la base de chaumes des pieds atteints mais présentant une végétation normale n'ont permis d'observer aucune trace de mycélium à l'intérieur des tissus, ni dans les vaisseaux conducteurs de la sève. La mauvaise formation des graines est due uniquement à la destruction d'une partie du feuillage et à la diminution de l'intensité chlorophyllienne. On peut donc conclure que les infections tardives ne permettent pas au champignon de gagner les tissus du chaume à partir des gaines, par suite de la présence des tissus sclérenchymateux.

VIII. MOYENS DE LUTTE

Les observations dans la nature, les expériences de contaminations artificielles, l'étude biologique et expérimentale et les recherches anatomiques ont montré la présence du mycélium dans les tissus des gaines foliaires et fréquemment dans les chaumes, la formation abondante des périthèces dans les gaines desséchées et parfois les chaumes des pieds atteints. Elles nous ont permis de conclure qu'*Ophiobolus oryzinus* attaque le riz à tous les stades de sa croissance, mais ne provoque la mort des pieds que si la contamination est précoce. Celle-ci se fait par les ascospores. Il est probable que le mycélium, abondant dans les tissus atteints, continue à évoluer sur les débris des chaumes après la récolte et, au contact du riz vivant, devient parasite. Les repousses provenant de graines tombées lors de la récolte peuvent servir de support au parasite pendant le repos des rizières.

Les mesures à prendre pour diminuer ou éliminer les foyers de contamination sont **surtout d'ordre mécanique :**

1º Au cours de la végétation, si l'attaque est intense, les pieds atteints, morts ou présentant les symptômes de la maladie, doivent être arrachés et brûlés.

Cette mesure appliquée dans la rizière de Boukoko a donné de très bons résultats. Le sol a été ensuite exposé aux conditions atmosphériques pendant quarante jours. Sur le riz qui a été semé à nouveau au même endroit, on n'a relevé qu'une attaque très faible (2-3 %).

2º Si l'attaque est sporadique, dès la récolte terminée, il faut arracher et brûler tous les débris. Si le riz a été fauché, il est nécessaire d'arracher soigneusement les bases des chaumes avec leurs racines et de les brûler. Si les rizières sont étendues, détruire les chaumes par le feu.

3º Effectuer un labour aussitôt après la destruction des chaumes et laisser le sol nu exposé au soleil.

4º Toutes les repousses provenant de graines tombées sur le sol au cours de la récolte et qui ont germé pendant le repos du sol doivent être arrachées et brûlées.

5º Laisser les rizières au repos pendant plusieurs mois avant de repiquer le riz.

6º Choisir pour les pépinières des terrains n'ayant porté aucune culture de riz et éloignés de la future rizière.

7º Pour les rizières en culture sèche, le changement de terrain et l'assolement peuvent donner de bons résultats.

8º L'emploi d'engrais et le choix de terres riches permettant un développement rapide et vigoureux des pieds peuvent diminuer les dommages causés par l'*Ophiobolus*.

Les traitements chimiques de désinfection du sol appliqués dans la lutte contre les « piétins », sur le blé et autres céréales, tels que le sulfate de cuivre, le soufre en fleur préconisé aux Etats-Unis par Kirby, l'épandage de sulfate de fer sur le sol, ont diminué sensiblement leurs attaques.

Le sulfate d'ortho-oxyquinoléine a été employé aussi par trempage des graines, ou par poudrage, en vue de diminuer le nombre des attaques primaires, puis par épandage sur le sol au cours de la végétation. Mais les résultats obtenus ne justifient pas son emploi. L'acide sulfurique à 10-12 % a été également préconisé. Mais ces procédés sont coûteux et, à part l'emploi de variétés résistantes, les moyens mécaniques indiqués ci-dessus sont les plus efficaces.

IX. CONCLUSIONS GÉNÉRALES

L'étude morphologique, micrographique, biologique et expérimentale que nous venons de présenter à propos d'un champignon observé sur riz, nous permet de tirer les conclusions suivantes :

1° Il s'agit d'*Ophiobolus oryzinus* Sacc., qui s'est révélé être un parasite très grave à Boukoko (Oubangui-Chari) en détruisant les vingt-sept variétés de la rizière irriguée. Jusqu'ici ce parasite n'avait été signalé qu'en Arkansas (U. S. A.).

2° Il peut contaminer le riz à tous les stades de sa croissance. Ses effets varient suivant ceux-ci, entraînant la mort des jeunes pieds, ou des pieds attaqués avant l'épiaison. La mortalité diminue lorsque l'infection devient tardive.

3° La pénétration du parasite se fait presque toujours par les premières gaines foliaires de la base.

4° Les attaques d'*Ophiobolus oryzinus* ont toujours comme conséquence soit la diminution sensible du tallage, soit le plus souvent son absence totale, d'où une diminution de la production.

5° Le flétrissement et la mort des jeunes plantes contaminées sont dus aux altérations profondes des tissus des gaines et de la base des chaumes, provoquées par le mycélium du champignon.

6° A tous les stades végétatifs, les tissus des gaines foliaires sont pénétrés par les hyphes. Par contre, le champignon est incapable de pénétrer les tissus sclérifiés des chaumes.

7° La formation des périthèces est presque constante dans tous les pieds atteints, le plus souvent dans la première ou la deuxième gaine, plus rarement sur les chaumes. Ils apparaissent trente à quarante-cinq jours après la contamination de la plante ou en cultures artificielles.

8° La température optimum de germination des ascospores en milieu saturé d'humidité se situe entre 26 et 27° C. A 35° C., la germination est arrêtée. La température léthale est 40° C.

9° Dans les conditions de température optimum, la germination est rapide lorsque les ascospores sont au contact d'une gouttelette d'eau. Elle est plus lente dans une humidité saturée sous forme de vapeur. En atmosphère non saturée, elle ne se produit pas.

10° Le champignon se développe facilement en milieux solides, et plus particulièrement sur corn meal agar où il forme des colonies rayonnantes, brun olivacé, à reflet verdâtre et à mycélium aérien floconneux.

11° Les moyens de lutte consistent en la destruction de tous les foyers de contamination, la maladie se transmettant par les ascospores et le mycélium qui séjournent dans les organes attaqués des pieds de riz, sur le sol et dans le sol.

Janvier 1953. Laboratoire de Phytopathologie de la Station Centrale de Boukoko (A. E. F.)

BIBLIOGRAPHIE

1. Baker (C. F.). — Additional notes on Philippine plant diseases. *Philipp. Agr. and Forest.*, V, pp. 73-8, 1916.
2. Melchers (L. E.). — Diseases of cereal and forage crops in the United States in 1924. *Plant Dis. Reptr. Suppl.*, 40, p. 107-8, 1925.
3. Saccardo (P. A.). — Notae mycologicae XX. *Nuovo Giorn. Bot. Ital.*, XXIII, N.-S., p. 203, 1916.
4. — *Sylloge fungorum*, XXIV, p. 1064, 1928.
5. Tullis (E. C.). — *Ophiobolus oryzinus* on rice in Arkansas. *Phytopath.*, XXII, 1, p. 28, 1933.
6. — *Ophiobolus oryzinus*, the cause of a rice disease in Arkansas. *Journ. Agric. Res.*, XLVI, 9, pp. 799-806, 1 fig., 1933.
7. — et Adair (C. R.). — Black sheath rot of rice (*Ophiobolus oryzinus*) caused lodging of rice in Arkansas and Texas in 1947. *Plant Dis. Reptr.*, XXXI, 12, p. 468, 1947.